JUNTA PARA AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

TRABAJOS DEL MUSEO NACIONAL DE CIENCIAS NATURALES

SERIE ZOOLÓGICA, NÚM. 33

PROMITOSIS Y SINDIÉRESIS

DOS MODOS DE DIVISIÓN NUCLEAR COEXISTENTES EN AMEBAS DEL GRUPO «LIMAX»

POR

ANTONIO DE ZULUETA
Encargado de Cursos prácticos de Biología en el Museo

(CON DOS LÁMINAS Y FIGURAS EN EL TEXTO)

(Publicado el 31 de diciembre)

MADRID
1917

SUMARIO

Introducción

Habiendo empezado a estudiar algunas Amebas, llamó mi atención el gran número de fases diferentes de división nuclear que, según muestran las láminas de este trabajo, aparecen en mis preparaciones de *Wasielewskia gruberi* (Schardinger). Como estaba seguro de que los individuos observados pertenecían a la misma especie—pues eran todos de una estirpe originada por una sola Ameba—intenté formar con las numerosas figuras de división nuclear una sola serie que representase este fenómeno; mas no logré mi intento, pues me fué imposible ordenar las fases observadas, de suerte que cada una quedase satisfactoriamente enlazada con las que debían considerarse como precedentes y siguientes. Procuré luego formar grupos con aquellas fases cuya sucesión fuese evidente, y ésto me condujo a admitir que *Wasielewskia gruberi* ofrece dos modos muy diferentes de división nuclear.

Ya Aragão en 1909 describió en otra Ameba *(Vahlkampfia diplomitotica)* dos modos distintos de división del núcleo, y más recientemente Bělař (1915) ha señalado en otra especie hechos semejantes; pero entre las observaciones de estos autores y las mías existen varias y muy importantes diferencias, que cambian por completo el concepto que debe formarse de uno de los dos procesos de división, del más complejo e interesante, al que propongo denominar *sindiéresis.*

Si se añade a esto el que los varios investigadores que con posterioridad a los antedichos han estudiado la división nuclear de las Amebas «limax», refieren a un solo modo de división todas las fases que han observado, creo que aparece justificada la publicación del presente trabajo sin aguardar a obtener otros resultados del estudio de varias especies de Amebas que están en cultivo en este Museo.

Material e indicaciones sobre nomenclatura

La Ameba, cuya división nuclear se estudia en este trabajo, es *Wasielewskia gruberi*, descrita por vez primera por SCHARDINGER (1899) en el género *Amoeba* y frecuentemente designada por los autores con la denominación sinónima *A. punctata*, que le dió DANGEARD años después (1910).

La identidad entre la Ameba aquí estudiada y la de SCHARDINGER (1899), se desprende de los siguientes caracteres por mí observados, que coinciden con los que da este autor según referencias de WÜLKER (1911) y ALEXEIEFF (1912 *c*).

Forma trófica variable. Unas veces la Ameba aparece irregularmente redondeada, midiendo por lo común de unas 10 a 20 μ, y mostrando uno o dos pseudópodos muy anchos; otras veces presenta la forma «limax» típica, esto es, forma alargada con el extremo anterior ancho, constituído por un pseudópodo, y el posterior estrecho; en este caso la longitud es de unas 15 a 30 μ, y la mayor anchura de unas 5 ó 6 μ. Algunas veces se observan ejemplares mayores. El núcleo y el endosoma son esféricos y fáciles de ver en vivo.

El quiste es esférico, de 10 a 13 μ, con doble cubierta que muestra cuatro o cinco poros; el núcleo es muy visible. En los

quistes recientes, el citoplasma presenta varias esferas cromáticas de tamaño semejante al del endosoma, las cuales desaparecen después.

Si las Amebas de un terreno sólido de cultivo se ponen en agua, toman forma alargada de unas 10 a 16 μ y forman dos flagelos, mediante los cuales nadan activamente. Esta fase flagelífera es fugaz, pues al cabo de unas horas los flagelos desaparecen y el animal recobra el aspecto corriente de Ameba.

Si sobre la especie a que pertenece la Ameba de que nos ocupamos no existe duda alguna, ocurre todo lo contrario por lo que se refiere al nombre genérico con que debe ser distinguido. SCHARDINGER (1899) lo describió en el género *Amoeba*. CHATTON y LALUNG-BONNAIRE (1912) propusieron el nombre genérico *Vahlkampfia* para designar el conjunto de especies que se solía llamar «Amibes *limax*» y «*Limax*-Amöben», y señalaron como genotipo la especie estudiada por VAHLKAMPF (1905).

Pocos días después, ALEXEIEFF (1912 *a*) propuso para el mismo grupo de Amebas el nombre *Nägleria*, tomando por genotipo la misma especie. *Nägleria* es, pues—según hizo observar inmediatamente CHATTON (1912)—, sinónimo de *Vahlkampfia*, y así lo reconoció ALEXEIEFF (1912 *b*), pero indicando al mismo tiempo que muy probablemente ambos nombres son sinónimos de *Dimastigamoeba*, género que BLOCHMANN (1893) creó para Protozoos con flagelos y capaces de tomar aspecto ameboide, que habían sido estudiados por KLEBS (1892) incluyéndolos en el género *Dimorpha*. En un trabajo poco posterior, ALEXEIEFF (1912 *c*) da como casi cierto el que el género *Dimastigamoeba* se refiere al estado flagelífero de una Ameba del grupo *limax*, y adopta aquel nombre en sustitución de *Vahlkampfia*. Aunque es innegable que existe alguna semejanza entre una parte de las figuras y descripciones de KLEBS, sobre las que se funda el género *Dimastigamoeba*, y los varios aspectos que ofrecen las Amebas del grupo *limax* que presentan fase flagelífera, me parece, por las razones aducidas por CHATTON (1912) y C. W. WILSON (1916) y al-

gunas otras (1), que no hay fundamento para incluir en el género *Dimastigamoeba* las Amebas «limax» e invalidar el género *Vahlkampfia* por razón de sinonimia, a menos que el estudio detallado — que hasta el presente no ha sido hecho — de la estructura delicada de las formas del primer género, demostrase el parentesco entre ambos, y se demostrase además — lo que no creo probable — que la Ameba estudiada por Vahlkampf (1905), genotipo de *Vahlkampfia*, tenga fase flagelífera.

Calkins (1913), considerando probable que algunas Amebas «limax» carezcan de fase flagelífera (2), propone restringir el gé-

(1) *Dimastigamoeba radiata* (Klebs) se diferencia notablemente de las Amebas del grupo *limax*, pues en su fase ameboide, tiene numerosos pseudópodos delgadísimos, y presenta fenómenos de bipartición durante la fase flagelífera, lo que hasta ahora no ha sido observado en dichas Amebas. *D. ovata* (Klebs), cuya fase ameboide se parece mucho a la de las «limax», tiene en cambio la forma flagelífera muy diferente de la de éstas.

Morof (1904) ha descrito dos nuevas especies de *Dimastigamoeba* (*D. simplex* y *D. agilis*) que, por su aspecto general y por verificarse la bipartición teniendo el animal flagelos, se asemejan muchísimo a las especies de Klebs. Y es de advertir que Morof no ha observado nunca que los flagelos desaparezcan, ni aun en los momentos en que el cuerpo tiene aspecto netamente ameboide, y como Klebs sólo en dos figuras (2g y 3c) representa formas sin flagelos, es de sospechar que en *Dimastigamoeba* subsisten éstos siempre, aunque en algún caso hayan pasado inadvertidos a Klebs, lo que nada tendría de extraordinario, pues no siempre son fáciles de apreciar y, además, en la figura 3c pudieron ser confundidos con los delgadísimos pseudópodos en ella dibujados.

En *Dimastigamoeba* los flagelos son permanentes—o, por lo menos, muy duraderos—aun en la fase ameboide y son compatibles con la bipartición, al revés de lo que ocurre en las Amebas «limax», en que la fase flagelífera es fugaz, los flagelos desaparecen muy pronto cuando el animal recobra su aspecto ameboide habitual y, hasta ahora, no se ha visto que subsistan durante la bipartición.

(2) Me parece esto casi indudable, pues, de existir, no hubiera pasado inadvertida a Vahlkampf (1905), que estudió la Ameba en varios terrenos de cultivo sólidos y líquidos, y que se planteó el problema de si existía o no dicha fase, según se deduce claramente de lo que dice en su página 210.

nero *Vahlkampfia* a las que no la presenten, y denominar *Nägleria* a las que, como *gruberi*, la ofrecen. El punto de vista de Calkins me parece excelente, pero la solución que propone no puede ser aceptada, porque el género *Nägleria* (Alexeieff, 1912 *a*) se creó para el mismo grupo de animales y con el mismo genotipo que lo había sido *Vahlkampfia* y, por consiguiente, debe ser invalidado por razón de sinonimia, y no puede ser vuelto a emplear para designar ningún grupo zoológico, mas que en el caso excepcional, que aquí no acontece, señalado en el artículo 36 de las Reglas internacionales de la nomenclatura zoológica (1). Casi al mismo tiempo que Calkins y con igual criterio que él, pero ajustándose a las Reglas, Hartmann (1913) restringe el género *Vahlkampfia* a las Amebas «limax» que carecen de fase flagelífera, y para las que la tienen crea, en unión de Schüssler (1913), el nuevo género *Wasielewskia*, que colocan entre los Flagelados en el orden Rizomastiginos junto a los géneros *Mastigamoeba*, *Mastigina*, *Mastigella* y *Trimastigamoeba*, indicando que esta posición sistemática es dudosa.

En el caso presente la distinción de dos géneros es, a mi juicio, muy acertada, sobre todo desde el punto de vista práctico, y así denominaré *Wasielewskia gruberi* a la Ameba cuya división nuclear estudio; pero, en cambio, no me parece admisible el colocar dichos géneros en clases diferentes de los Protozoos. *Vahlkampfia* y *Wasielewskia* son, a mi ver, dos géneros muy afines; la semejanza, aun de detalle, que existe durante sus fases trófica y de quiste, hace ya presumir estrecho parentesco,

(1) El hecho de que Alexeieff (1912 *a*), en su diagnosis de *Nägleria*, dé como carácter la fase flagelífera, y Chatton et Lalung-Bonnaire (1912) no lo citen al proponer el género *Vahlkampfia*, no puede ser motivo para mantener aquel género, pues ambas diagnosis se refieren exactamente al mismo grupo de animales, y no es indispensable el que las diagnosis contengan todos los caracteres del grupo a que se refieren. Aparte de que Alexeieff (1912 *a*), según se desprende de la nota 2 de su página 59, no considera como carácter esencial la fase flagelífera y Chatton (1912, página 112) reconoce su existencia en alguna *Vahlkampfia*.

y esta presunción se confirma plenamente por el estudio de la división nuclear, según veremos más adelante; sin que sea inconveniente para admitir esta afinidad la fase flagelífera de *Wasielewskia*, pues los flagelos son orgánulos de movimiento muy generalizados en los seres vivos.

El dividir en dos el antiguo género *Vahlkampfia*, que era la expresión conforme a las Reglas de la nomenclatura de lo que comúnmente se llaman Amebas «limax», tiene la desventaja de que este grupo pierde su denominación regular; pero este inconveniente se salvaría estableciendo la familia *Vahlkampfidae*, que podría reunir los géneros *Vahlkampfia*, *Wasielewskia*, *Trimastigamoeba*, y, acaso, otros de los que se vayan formando a medida que se conozca mejor la división nuclear y el ciclo vital de las Amebas «limax».

Técnica

Cultivos. — Como terreno de cultivo he empleado el agar con cocimiento de heno, preparado del modo siguiente: en 1 litro de agua de la fuente se cuecen 30 gramos de heno (1) seco durante treinta minutos; se filtra por vidrio hilado; al líquido filtrado se añaden 7 gramos de agar, y además agua en cantidad suficiente para reponer la perdida por evaporación; se calienta hasta que se disuelva el agar, y se añade disolución acuosa de carbonato sódico hasta que el líquido muestre reacción alcalina; se filtra en caliente por vidrio hilado, y se recoge lo filtrado en placas de Petri, que luego se esterilizan en autoclave. Es conveniente que la capa de agar-heno no tenga más de unos 8 milí-

(1) No me refiero a una especie botánica determinada, sino al conjunto de hierbas de prado que se utilizan en seco para alimento del ganado.

metros, a fin de que su superficie pueda ser examinada al microscopio, iluminando por transparencia.

Aparecieron las primeras *Wasielewskia gruberi*, junto con muchos otros organismos, en una placa sembrada con agua sobrante del riego de unas macetas. Con material de dicha placa se sembraron otras, y se repitió varias veces la siembra, eligiendo material de puntos en que predominaban los quistes de *W. gruberi*; mas no fue posible así obtener ninguna placa en que apareciese esta especie sin ir acompañada de otras Amebas. Por último, mediante una cerda corta, sujeta a un mango de vidrio, conseguí —después de varios intentos— sembrar una placa *con un solo quiste* de *W. gruberi*, acompañado de diversas bacterias, que fué el origen de la estirpe que ha servido para el estudio de las divisiones nucleares expuesto en este trabajo. Como durante el invierno, a la temperatura del laboratorio, el desarrollo de los cultivos resultaba muy lento, se tuvieron las placas en estufa a 25°. A esta temperatura, la multiplicación de las Amebas y de las bacterias de que ellas se alimentan es muy rápida; las placas, abundantemente sembradas, a las quince o veinte horas contienen numerosas Amebas en bipartición; a los dos días están cubiertas de Amebas, las cuales pronto pasan al estado de quistes, que cubren la placa con relativa uniformidad.

Preparaciones.—Para la mayor parte de ellas se ha tomado el material de la superficie de la placa mediante el borde de un cubre-objetos, se ha extendido sobre otro cubre-objetos, y se ha fijado inmediatamente el frote en sublimado y alcohol, según la fórmula débil de SCHAUDINN (1), adicionados con unas gotas de ácido acético.

He empleado varios procedimientos de teñido. El de safranina y «Lichtgrün S. F.» de BENDA (2) proporciona preparaciones

(1) Disolución acuosa saturada de sublimado, 1 parte; alcohol de 95°, 2 partes.

(2) Referido en la *Enzyklopädie der mikroskopischen Technik*, publicada por EHRLICH, KRAUSE... (1910), t. II, pág. 477.

sumamente instructivas, si se emplea con alguna variante de tiempo y concentración: el teñido en safranina debe durar sólo diez minutos; la disolución alcohólica de «Lichtgrün» ha de ser muy diluída (1 $^0/_{00}$); las preparaciones, antes de ser tratadas por el «Lichtgrün», deben lavarse rápidamente en alcohol, para que pierdan el exceso de safranina. Con este método he podido interpretar satisfactoriamente los dos modos de división nuclear de *Wasielewskia gruberi*, gracias a que, mediante él, las materias cromáticas del núcleo se tiñen de diferente color (véanse las láminas), lo que permite seguirlas con seguridad en sus complicados cambios de posición y forma.

El método de hematoxilina y alumbre de hierro de HEIDENHAIN proporciona preparaciones que comprueban lo visto en las teñidas por el método anterior, como muestra la comparación de las figuras A, B y C del texto con las figuras 2, 19 y 30 de las láminas. El método de HEIDENHAIN, empleado solo, es insuficiente para el estudio de los procesos de división nuclear de la Ameba de que nos ocupamos, y por la preferencia que a este método han concedido la mayor parte de los autores que han estudiado los Valkampfidos, puede explicarse el que, hasta ahora, no hayan sido debidamente interpretadas fases de división nuclear vistas hace ya bastante tiempo.

El colorante de GIEMSA tiñe también de color diferente los materiales cromáticos del núcleo, pero he obtenido con él resultados menos satisfactorios que con el proceder primeramente citado.

La mezcla de verde de metilo y fuchsina ácida tiñe por igual de rojo los elementos cromáticos de núcleo, al revés de lo que he observado (ZULUETA, 1915) en *Dinenympha gracilis*. Este método es, sin embargo, útil en algunos casos determinados, como luego veremos.

El núcleo de *Wasielewskia gruberi*

Es esférico, mide comúnmente unas 3 ó 4 μ (máximo observado, 6 μ; mínimo, 2 $^1/_2$ μ); aunque varía de posición con los movimientos del animal, no suele alejarse del centro.

Está constituído (fig. A y lám. I, figs. 1 y 2) por un endosoma voluminoso, cromatina periférica abundante, unas trabéculas radiantes acromáticas y el jugo nuclear. Me inclino a creer que no tiene membrana; de existir, es delgadísima.



Fig. A. *Wasielewskia gruberi*. Fase trófica (Hematoxilina de HEIDENHAIN; × 2.000)

El endosoma es esférico; su diámetro oscila entre 1 y 2 $^1/_2$ μ (comúnmente unas 2 μ). Se tiñe intensamente por el método de HEIDENHAIN; por el de safranina y «Lichtgrün S. F.», de BENDA, retiene la safranina; por el de GIEMSA toma color azul. Generalmente se muestra homogéneo; mas no es raro que tenga hacia su centro una, dos o más vacuolas pequeñísimas, pero muy visibles, tanto en vivo como en las preparaciones, semejantes a las señaladas por CHATTON (1910) en *Vahlkampfia mucicola*. En las preparaciones teñidas con safranina y «Lichtgrün», estas vacuolas quedan sin teñir, formando contraste con el color oscuro del endosoma; mediante la mezcla de fuchsina ácida y verde de metilo, se tiñen de verde muy vivo y resaltan sobre el cariosoma teñido de rojo. Cuando sólo existe uno de estos corpúsculos, ocupa el centro del endosoma y simula un centriolo. Verdadero centriolo no he podido observar nunca, y me inclino a creer que no existe.

La cromatina periférica forma en la región más externa del núcleo una capa cuyo grueso es como la tercera o cuarta parte del radio de aquél. Está constituída por granos pequeñísimos e irre-

gulares y parece que entre ellos hay material cromático difuso que se tiñe de igual modo que los granos. Por el método de HEIDENHAIN retiene el color menos que el cariosoma; en el de BENDA toma el «Lichtgrün S. F.».

Vemos, pues, que en el núcleo de *Wasielewskia gruberi* se distinguen dos clases de cromatina: la del cariosoma, que, con el método de BENDA, se muestra basófila, y la cromatina periférica, que, por dicho método, aparece oxífila. Conviene, sin embargo, recordar, a fin de no atribuir aquí a las expresiones «cromatina basófila» y «cromatina oxífila» mayor valor del que en realidad deban tener, que, a pesar de varias tentativas metódicas no he podido diferenciar las dos cromatinas con el empleo de la mezcla de verde de metilo y fuchsina ácida, colorantes que permiten distinguir dos sustancias cromáticas en el núcleo de *Dinenympha gracilis*, según describí en un trabajo anterior (ZULUETA, 1915), y en el de *Trichonympha agilis*.

Como armazón acromático de linina, mis preparaciones no muestran más que las trabéculas o filamentos radiantes, que van de la superficie del endosoma a la cromatina periférica; pero es muy probable que entre ésta se oculten otras partes de dicho armazón.

El jugo nuclear se halla reunido principalmente en el espacio comprendido entre el endosoma y la cromatina periférica.

La división nuclear de *Wasielewskia gruberi*

El núcleo de esta Ameba se divide de dos modos completamente diferentes, entre los cuales no he observado transición.

Uno de ellos es una promitosis típica, empleando esta denominación de NÄGLER (1909), en el sentido que precisó ALEXEIEFF (1913). El otro es un proceso complejo, formado por tres divi-

siones nucleares inseparablemente enlazadas, razón por la cual propongo denominarlo sindiéresis.

Promitosis (Lám. I, figs. 3 a 18). —Señálase el comienzo de este modo de división nuclear porque la cromatina periférica parece aumentar de volumen e invade el centro del núcleo, al tiempo que el endosoma pasa a ocupar una posición excéntrica (lám. I, fig. 3). Luego el núcleo entero se alarga ligeramente, el endosoma se alarga también (lám. I, fig. 4) y se encorva, presentando el lado convexo hacia afuera (lám. I, fig. 5). Seguidamente, la sustancia que forma el endosoma va corriéndose hacia los extremos de éste, que aumentan de volumen (lám. I, fig. 6), con lo que resultan dos masas de forma variable, situadas cerca de los polos del núcleo (lám. I, figs. 7 y 8), unidas entre sí por un puente o porción más angosta, que va adelgazándose progresivamente hasta reducirse a un hilo delgadísimo. que al fin desaparece (lám. I, fig. 9). Así resultan constituídos dos cuerpos polares voluminosos (lám. I, figs. 9 a 11), cuya forma—por lo menos en el momento de constituirse—es muy variable: en unos casos, muy ancha, como de casquete esférico (lám. I, fig. 9); en otros, más globosa (lám. I, fig. 10).

Las figuras 15, 16 y 18 (lám. I) corresponden a fases semejantes a las representadas por las figuras 6, 8 y 7, respectivamente, pero vistas por el lado del núcleo a que está más próximo el endosoma. Como la pequeñez de ellas hace difícil darse cuenta de la profundidad a que se encuentra el puente o parte angosta del endosoma, fácilmente se incurriría en el error de creer que éste, al alargarse, ocupa posición axil, si las figuras últimamente citadas no demostrasen claramente lo contrario.

Estos fenómenos del endosoma son simultáneos de otros que ocurren en la cromatina periférica. Al paso que aquél se alarga, ésta invade el centro del núcleo (lám. I, figs. 4 a 7) y se dispone formando unos filamentos — probablemente ocho o diez—que constituyen un huso elipsoidal alargado, en cuyos ex-

tremos están situados los cuerpos polares (lám. I, figs. 8 y 9). Designaré estos filamentos con el nombre de cromomitos, porque no me parece seguro que sean homólogos de los cromosomas de otros Protozoos: la existencia de los cromomitos no es anterior a la constitución del huso; y paréceme probable que la figura se origina formándose un huso acromático con el material que constituye las trabéculas y el presunto armazón de la cromatina periférica (fig. A del texto) y depositándose sobre el huso, independientemente unos de otros, los granos de esta cromatina.

Constituído el huso y los cuerpos polares, el núcleo ha tomado una disposición (lám. I, figs. 10 y 11) que puede compararse a la metafase de las células de los Metazoos.

Presumo que a esta fase debe seguir la división de los cromomitos por su punto medio e, inmediatamente después, la de todo el núcleo y la del citoplasma, pues sólo así pueden explicarse unos núcleos muy peculiares y frecuentes en las preparaciones (lám. I, fig. 12), los cuales muestran un solo cuerpo polar, situado en el lugar que fué extremo del huso y acompañado de las mitades de los cromomitos que aparecen todavía ordenadas con uno de sus extremos casi en contacto con el cuerpo polar y el otro—el de ruptura—libre: Luego el cuerpo polar, ocupando el centro del núcleo (lám. I, fig. 13), pasa a ser el endosoma hijo, y la cromatina periférica se distribuye en la región más externa del núcleo, con lo que resulta terminada la promitosis y constituídos los dos núcleos hijos iguales al que les ha dado origen (lám. I, fig. 14).

La división del citoplasma, por lo común, sigue inmediatamente a la del núcleo, no habiendo podido hallar ningún individuo con más de dos núcleos y raras veces formas con dos núcleos en que la promitosis esté ya terminada. Tan sólo en un caso he podido observar un individuo binucleado, en que uno de los núcleos iniciaba ya una nueva división (lám. I, fig. 17), sin que el citoplasma—muy voluminoso—diese muestras de dividirse.

De lo expuesto se deduce que, en la promitosis de *Wasielewskia gruberi*, la cromatina basófila del cariosoma y la oxífila de la periferia no se mezclan nunca: los aumentos o disminuciones de volumen de estos elementos pueden explicarse por el mayor o menor grado de condensación de ellos o por variaciones individuales.

Aunque no he podido precisar con seguridad la procedencia del armazón acromático del huso, me parece poco probable que tenga origen endosomático, como supone ALEXEIEFF (1913) en su definición de promitosis.

En ninguna fase de promitosis he visto centriolo, orgánulo cuya existencia ha sido negada por GLÄSER (1912) en las Amebas y por REICHENOW (1913) en los Coccidios. Y, a mi ver, nada autoriza tampoco a afirmar que el endosoma entero desempeñe papel director en la promitosis: los fenómenos que ocurren durante la división en el endosema y en la cromatina periférica son solidarios; pero no hay prueba de que los de un elemento estén subordinados a los del otro.

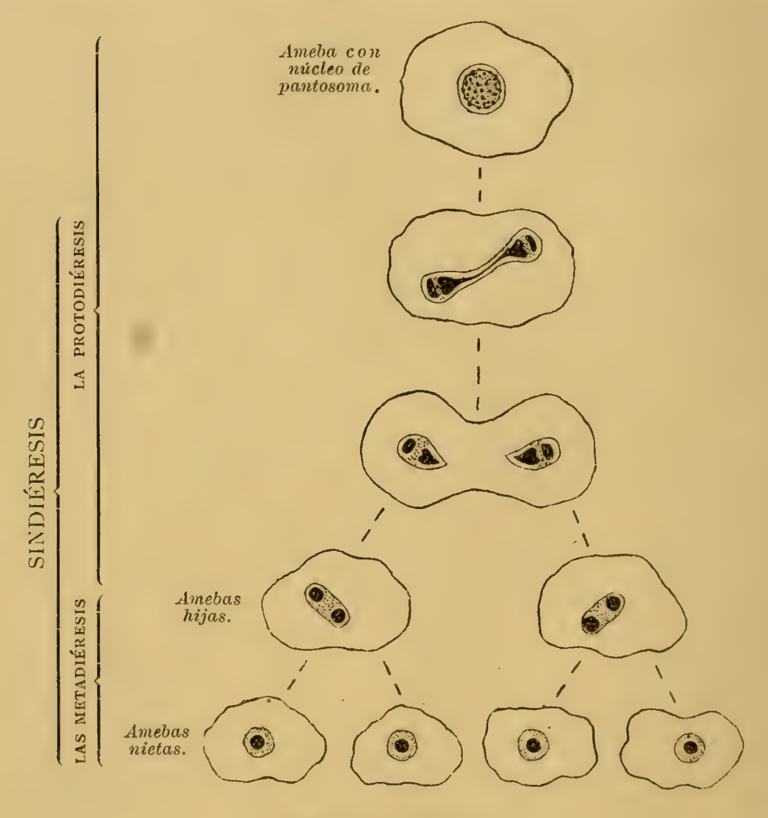
Sindiéresis (Lám. II, figs. 19 a 42). — Consiste este modo de división del núcleo en una amitosis peculiar que produce dos núcleos hijos, en cada uno de los cuales está ya iniciada una nueva división, que seguidamente se termina, quedando así formados, como resultado final del proceso, cuatro núcleos nietos. La *sindiéresis* consta, pues, en junto, de tres divisiones nucleares inseparablemente enlazadas: a la primera de ellas propongo llamar *protodiéresis*, y a las dos gemelas que de ésta se originan las denominaremos *metadiéresis*. (Véase el esquema de la página siguiente.)



Fig. B. *Wasielewskia gruberi* con núcleo de pantosoma (Hematoxilina de HEIDENHAIN; × 2.000).

LA PROTODIÉRESIS. — Se origina en núcleos especiales, muy diferentes de los núcleos comunes que dan origen a la promitosis. Estos núcleos peculiares (lám. II, fig. 19 y fig. B del

texto), abundantes en mis preparaciones, están constituídos por una esfera cromática, relativamente voluminosa (3 a 4 $^1/_2$ μ), que por el método de safranina y «Lichtgrün S. F.» de Benda muestra estar constituída por dos sustancias diferentes: una que



Esquema de la sindiéresis

se tiñe de color verde (cromatina oxífila), la cual constituye casi la totalidad de la esfera y tiene aspecto difuso, y otra que retiene el color rojo (cromatina basófila) y está formando numerosos granitos irregularmente esparcidos en la superficie. Para mayor claridad en la descripción que va a seguir, llamaremos *pantosoma* a esta esfera cromática, porque, aparte del jugo nuclear, es ella el

único elemento apreciable en estos núcleos, y de él han de derivar, tanto los endosomas como la cromatina periférica de los cuatro núcleos que origina la sindiéresis.

El primer fenómeno de la protodiéresis consiste en que el pantosoma se alarga y se hace elipsoidal: los granos basófilos, pocos en número, siguen mostrándose uniformemente repartidos (lám. II, fig. 20 y fig. C del texto). Luego, los granos basófilos se vuelven más numerosos y se acumulan de preferencia en los extremos del alargado pantosoma, donde parecen fundirse entre sí, constituyendo el origen de dos masas o cuerpos polares de cromatina basófila, que — para distinguirlos de otros que luego se formarán — denominaremos *cuerpos polares primeros* (lám. II, figs. 21 y 22).



Fig. C.
Wasielewskia gruberi. Una fase de la sindiéresis (Hematoxilina de HEIDENHAIN; × 2.000).

Continúa alargándose el pantosoma (lám. II, fig. 23) y, angostándose en el medio, toma el aspecto de un bizcocho (lám. II, fig. 24), al mismo tiempo que la cromatina basófila sigue aumentando y la oxífila disminuyendo: la basófila—formados ya los orígenes de los cuerpos polares primeros—se acumula en la región central del pantosoma, donde empieza a formar un voluminoso y alargado *cuerpo intermedio*, que queda separado, por una pequeña región oxífila, de cada cuerpo polar primero.

El pantosoma y la aureola de jugo nuclear que le rodea siguen alargándose más y más, hasta alcanzar casi la longitud del diámetro del Ameba (lám. II, figs. 25, 26 y 27). Los cuerpos polares primarios aparecen más compactos y en forma de casquetes esféricos; el cuerpo intermedio se ha alargado mucho, es casi cilíndrico y sus extremos presentan una depresión (lám. II, figuras 26 y 27); los granos de cromatina basófila que lo integran se agrupan, formando cuerpecillos irregulares alargados (lám. II, fig. 25), que se ordenan unos a continuación de otros (lám. II, fig. 26), formando cuatro o seis líneas, paralelas al eje del nú-

cleo (lám. II, fig. 27); entre estas líneas de cuerpecillos parece existir una sustancia basófila difusa. Las dos pequeñas regiones subsistentes de cromatina oxífila (lám. II, fig. 25) que unen el cuerpo intermedio a los cuerpos polares, se retraen y forman dos masas discoideas, separadas de aquellos cuerpos por delgadas capas de jugo nuclear (lám. II, figs. 26 y 27).

Continúa alargándose el cuerpo intermedio hasta el punto de que la longitud del núcleo iguala, y aun a veces excede, a la del citoplasma, en el seno del cual toma forma de S (lám. II, fig. 28); al propio tiempo, el cuerpo intermedio se adelgaza considerablemente en su parte central, que se reduce a un filamento que al fin se rompe en su punto medio y, dividiéndose también allí la delgadísima capa de jugo nuclear, quedan constituídos dos núcleos hijos (lámina II, fig. 29).



Fig. D.
Wasielewskia gruberi. Una fase de la sindiéresis (Hematoxilina de HEIDENHAIN; × 2.000).

Cada uno de ellos (lám. II, figs. 29, 30 y 31 y fig. D del texto), está formado por las partes siguientes: 1) Un cuerpo polar primero que conserva aún la forma de casquete esférico. 2) La mitad del cuerpo intermedio, que es cónica o acorazonada y originará un *cuerpo polar segundo*. 3) Una masa discoidea de cromatina oxífila situada entre los dos orgánulos mencionados. 4) Jugo nuclear.

En cada núcleo hijo se verifica un proceso de regulación, del que nos daremos perfecta cuenta comparando las figuras 29, 30, 31, 32 y 35 (lám. II); el cuerpo polar primero adquiere forma esférica; la mitad del cuerpo intermedio pasa a ser el cuerpo polar segundo, tomando igual forma y aspecto que el primero, si bien en volumen puede haber diferencia entre ambos (lám. II, fig. 42 y fig. E del texto); la cromatina oxífila, que aumenta notoriamente y parece formada por granos unidos entre sí por una sustancia difusa, toma forma de lente bicóncava (lám. II, figs. 29 a 35), muy gruesa y de caras tan excavadas, que en su

Zulueta (A. de).—*Promitosis y sindiéresis; dos modos de división nuclear coexistentes en Amebas del grupo* «limax». (Trab. Mus. Nac. Cien. Nat., Madrid. Ser. Zool. núm. 33, 55 págs., 2 láms., figuras en el texto.)

Wasielewskia gruberi (Schardinger), Amibe du groupe «limax», offre deux types de division du noyau tout à fait différents: la promitose et la syndiérèse.

La promitose de *W. gruberi* s'accorde bien avec la promitose d'autres Amibes.

On désigne sous le nom de syndiérèse un ensemble complexe de divisions nucléaires constitué par une division très spéciale qui origine deux noyaux fils qui, au moment de leur séparation, se trouvent déjà eux aussi à l'état de division, laquelle, en s'accomplissant, donne comme résultat final quatre noyaux petits-fils. La syndiérèse est donc composée de trois divisions nucléaires inséparablement enchaînées; la première est appelée la protodiérèse et les deux secondes les métadiérèses.

La syndiérèse a comme point de départ des noyaux spéciaux — noyaux à pantosome—, qui sont très différents des noyaux ordinaires. L'origine des noyaux à pantosome n'est pas encore connue; mais il est absolument certain que toutes les Amibes observées appartiennent à une seule espèce, puisque toutes ont été prises sur des cultures provenant d'un seul quiste soigneusement isolé.

L'auteur compare ses observations avec les descriptions de la division nucléaire d'Amibes «limax» données par Chatton (1910), Válkampf (1905), Alexeieff (1911), Nägler (1909), Dangeard (1910), Gläser (1912), Chatton et Lalung-Bonnaire (1912), Ford (1914), Wasielewski et Kühn (1914), Ch. W. Wilson (1916), Aragão (1909) et Bělař (1915), et il fait remarquer que ces deux derniers auteurs ont bien admis deux types de division; mais que, n'ayant connu ni les noyaux à pantosome ni la métadiérèse, la description qu'ils donnent du type le plus compliqué de division nucléaire s'écarte essentiellement de celle qui, fondée sur des faits nouveaux, est donnée sous le nom de syndiérèse.

oquedad quedan alojados, en parte, los cuerpos polares, como muestra la figura 35 *a* (lám. II), que representa el mismo núcleo que la figura 35 (lám. II), pero visto superficialmente. Por el lado, la cromatina oxífila repele el citoplasma (lám. II, fig. 32), de suerte que el conjunto del núcleo, cuya forma en esta fase es de elipsoide alargado, tiene un engruesamiento en el ecuador.

Verificado el proceso de regulación por el cual los dos cuerpos polares de cada núcleo han adquirido igual forma, puede considerarse terminada la protodiéresis. La disposición de cada núcleo gemelo (figs. 32, 35 y 35 *a*) ofrece cierta semejanza con la llamada metafase de la promitosis (lám. I, figs. 9 y 10); mas existen algunas diferencias constantes. En la promitosis la cromatina oxífila (cromatina periférica) está dispuesta en cromomitos, que constituyen un huso separado siempre del citoplasma por una capa de jugo nuclear; al final de la protodiéresis, la cromatina oxífila forma una masa que parece en contacto con el citoplasma.

En este proceso de regulación, podría suponerse que la cromatina basófila emigra de los cuerpos polares segundos a los primeros o viceversa, apoyando esta hipótesis en la figura 33 (lámina II); pero no creo que, en realidad, sea así, pues esta figura es excepcional por lo que respecta al detalle que ahora nos interesa, y el filamento basófilo que une los dos cuerpos polares de uno de los núcleos puede haberse constituído *in situ* si se tiene en cuenta la forma, no muy regular, en que la cromatina basófila aparece en el pantosoma.

A la división del núcleo sigue la del citoplasma, quedando así formadas las dos Amebas hijas. Unas veces el citoplasma se divide antes de que se verifique en los núcleos hijos el proceso de regulación (lám. II, figs. 33 y 34); otras, la división citoplasmática se retrasa algo y, en este caso, los dos núcleos hijos tienden a reunirse hacia el centro de la Ameba (lám. II, fig. 32.)

Las metadiéresis.— En cada una de las dos Amebas hijas, el

núcleo originado por la protodiéresis se alarga (lám. II, fig. 36); la cromatina oxífila se divide por el plano ecuatorial y va distribuyéndose alrededor de los endosomas, según muestra la fig. E del texto (1), resultando así dos núcleos (lám. II, fig. 37), en los cuales los cuerpos polares han pasado a ser endosomas y la cromatina oxífila a cromatina periférica. Y dividiéndose luego el citoplasma de cada Ameba hija, quedan formadas las cuatro Amebas nietas, término de la sindiéresis.

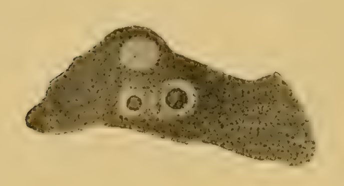


Fig. E.
Wasielewskia gruberi. Una fase de la sindiéresis. (Safranina y «Lichtgrün S. F.» de BENDA; × 2.000).

Los núcleos que resultan de la sindiéresis (lám. II, fig. 37) se distinguen generalmente por su tamaño de los que produce la promitosis (lám. I, figs. 14 y 17), lo cual es consecuencia de que los cuerpos polares de esta última forma de división (lam. I, figs. 9 a 12), son casi siempre mayores que de aquélla (lám. II, figs. 32 a 36). También el citoplasma de las Amebas que acaban de resultar de la sindiéresis suele ser menor que el de los originados por promitosis, lo que se explica simplemente, porque la promitosis produce sólo dos individuos y la sindiéresis cuatro, sin que exista durante ella período de crecimiento.

Explicada ya la marcha normal de la sindiéresis, conviene señalar algunas figuras anómalas que he visto en las preparaciones. De la figura 33 (lám. II), anormal sólo por lo que respecta al filamento que une los cuerpos polares de uno de sus núcleos, ya se ha hablado. La figura 38 (lám. II) es una variante de la 22 (lám. II), con los granos basófilos del pantosoma, pocos, relativamente gruesos y ordenados en líneas meridianas: tiene

(1) Esta interesante fase, aunque aparece en una preparación obtenida por el método de safranina y «Lichtgrün S. F.» de Benda, no ha sido incluída en las láminas, porque fué observada después de terminadas éstas.

interés, porque—de haber estado la preparación teñida por el método de HEIDENHAIN—fácilmente la hubiésemos podido considerar como una fase siguiente a las representadas por las figuras 8 y 9 (lám. I), lo que nos hubiese inducido en el error de enlazar figuras de promitosis y de sindiéresis. En la figura 39 (lám. II) vemos un pantosoma que ha adquirido gran longitud, teniendo aún poco material basófilo: es bastante frecuente. La 41 (lám. II) nos muestra un núcleo que se divide, habiéndose alargado muy poco. La 40 (lám. II) muestra una enorme desigualdad entre el volumen de los cuerpos polares primeros y el de los segundos, y es casi seguro que los individuos en que existe esta desproporción originen núcleos como el de la figura 42 (lám. II), en que los cuerpos polares son de diámetro muy diferente.

Descrito el fenómeno de la sindiéresis, procede preguntarse: ¿Qué circunstancias lo determinan? ¿Cómo se originan los núcleos de pantosoma? No he podido hallar solución a estas dos cuestiones, aunque sí debo repetir, por lo que se refiere a la última, que todas las Amebas objeto de mi estudio son, no sólo de la misma especie, sino de una misma estirpe, originada por un solo individuo. Es conveniente recordar aquí esta circunstancia, porque ARNDT (1914) llamó la atención sobre que sería posible que los dos modos de división descritos por ARAGÃO (1909) en *Vahlkampfia diplomitotica* correspondiesen a dos especies distintas que este autor no hubiese acertado a distinguir.

En cuanto a la significación o función de la sindiéresis, es aún aventurado afirmar nada. Creo, sin embargo, que pueden tomarse en consideración tres suposiciones: 1) Que esté relacionada con la singamia. 2) Que sea simplemente un modo acelerado de división. 3) Que forme parte de un proceso de reorganización interna del núcleo, comparable al de endomixis descrito por WOODRUFF y ERDMANN (1914) en *Paramaecium aurelia* y comprobado posteriormente por WOODRUFF (1916) como fenómeno regular, por lo menos en dicha especie.

Observaciones en vivo.—Las descripciones que preceden de la promitosis y sindiéresis, están basadas exclusivamente en el estudio de Amebas fijadas y teñidas. A fin de comprobar de un modo indubitable la exactitud del orden atribuído a las diferentes fases, me propuse observar en vivo la división nuclear; pero no me fué posible conseguirlo, por una causa tan inesperada como interesante. Observando al microscopio — bien entre portaobjeto y cubreobjeto, bien en cámara húmeda—material procedente de una placa de cultivo sembrada uno o dos días antes, pude ver varias Amebas, cuyo núcleo se hallaba en fases típicas de promitosis, como las representadas por las figuras 6, 15 y 18 (lám. II); pero, en lugar de seguir adelante la promitosis y quedar aislados los dos cuerpos polares, adoptaba el cariosoma una marcha regresiva, poco a poco se volvía elipsoidal como en la fig. 4 (lám. II), y, por último, esférico como en la 2 (lám. II). Es más: en dos ocasiones he visto el cariosoma, que tenía ya la forma señalada en la fig. 18 (lám. I), dividirse formando los dos cuerpos polares, y éstos, al cabo de bastantes minutos de estar separados, acercarse de nuevo, fundirse y tomar otra vez la forma representada en la fig. 15 (lámina I), para terminar seguramente en forma esférica, si bien esto último no pude verlo. El conjunto de transformaciones dichas duró unos veinticinco minutos.

Atribuyo provisionalmente esta marcha regresiva de la promitosis a la acción de la luz intensa; pero debo advertir que otras Amebas no ofrecen este extraño fenómeno y que en ellas se observa en vivo la bipartición. (Gläser, 1912.)

No será inútil hacer notar que la fusión de los dos cuerpos polares en la marcha regresiva de la promitosis, simula perfectamente una cariogamia. En presencia de este fenómeno creí estar cuando al observar por vez primera en vivo una Ameba con dos cariosomas muy próximos, vi con asombro que se fundían.

Comparación de la división nuclear de *Wasielewskia gruberi* con la de otras Amebas «limax»

La división nuclear de las Amebas «limax» ha sido ya estudiada por numerosos autores, que han descrito el fenómeno de modos muy diferentes y aun contradictorios.

Nace la confusión existente en asunto tan tratado, de dos causas principales. En primer lugar, el conjunto de fases diferentes de sindiéresis, publicado por los diversos autores, es mucho menor que el ofrecido en la lámina II y figs. 2 a 5 del texto de este trabajo: los núcleos de pantosoma, las fases finales de la protodiéresis y las de metadiéresis, no habían sido hasta ahora publicadas. Además, la mayor parte de los investigadores, han fundado de preferencia—cuando no exclusivamente—sus descripciones y dibujos en preparaciones teñidas por el método de hematoxilina férrica que, al no distinguir cromáticamente los diferentes elementos del núcleo, induce en el error de considerar como sucesivas, fases que las preparaciones teñidas por el método de safranina y «Lichtgrün S. F.» de Benda, muestran claramente que, o son muy distantes, o pertenecen a procesos diferentes.

Con las descripciones de la división nuclear de las Amebas «limax», dadas por los numerosos zoólogos que han estudiado este asunto, se pueden formar tres grupos: 1) Descripciones fundadas exclusivamente en fases de promitosis, y cuyos autores, por consiguiente, exponen sólo este modo de división. 2) Descripciones de los que a pesar de haber observado fases de promitosis y de sindiéresis, no admiten más que un solo modo de división. 3) Descripciones de los que habiendo observado fases de ambos procesos, admiten dos modos de división nuclear, si bien sus descripciones difieren mucho de las dadas en el presente trabajo.

1) Descripciones fundadas exclusivamente en fases de promitosis.

Chatton (1910), en su *Vahlkampfia mucicola*, describe una división nuclear que en sus líneas generales concuerda con la promitosis de *Wasielewskia gruberi*.

Tiene interés el que no haya observado ninguna fase sindierética, pues es un argumento en favor de que la promitosis, tal como queda descrita en este trabajo, constituye un proceso completo de división nuclear.

Calkins (1909) da un fotograma de la división nuclear de *Vahlkampfia limax* que puede referirse a la promitosis.

Alexeieff (1911) al describir su *Amoeba (Vahlkampfia?) densa*, da una sola figura de la división nuclear, que es casi idéntica a mi figura 16 (lám. I).

2) Descripciones de autores que, a pesar de haber observado fases de promitosis y de sindiéresis, admiten un solo modo de división nuclear.

Coinciden las descripciones de este grupo — el más numeroso — en presentar como primeras fases de la división del núcleo, fases de promitosis que luego aparecen erróneamente enlazadas con fases de sindiéresis, a pesar de lo cual suponen como término del proceso la formación de sólo dos núcleos.

Vahlkampf (1905) en su memoria, ya clásica, sobre *Vahlkampfia limax* (Dujardin emend.) da figuras de promitosis y de sindiéresis muy semejantes a las de *Wasielewskia gruberi*, no obstante lo cual agrupa todas las fases observadas en un solo modo de división nuclear. Según Vahlkampf, el endosoma (cariosoma) se alarga, se angosta en el centro (fig. F_b) y se divide, formando así dos voluminosos cuerpos polares, entre los cuales se extiende un huso de origen endosomático (fig. F_c), en el que aparece una placa ecuatorial, formada al principio por granitos

pequeñísimos (fig. F_d) que luego aumentan y se reúnen, constituyendo tres cromosomas (figs. $F_{e,f}$); luego éstos se dividen (fig. F_g) y sus mitades se agrupan formando dos masas (fig. $F_{h,i}$), unidas a veces (fig. F_h) por un filamento, que son los que, en junto,



Figs. F_{a-p}.
División nuclear de *Vahlkampfia limax*, según VAHLKAMPF (1905).

hemos llamado en *W. gruberi* «cuerpo intermedio». Mientras estos fenómenos se verifican, los cuerpos polares van disminuyendo de volumen (fig. F·), se hacen pequeñísimos, a veces se fragmentan (fig. F_k), y por fin desaparecen por completo (fig. F_l), habiendo pasado toda su materia a aumentar la de las dos masas cromosomáticas (mitades del cuerpo intermedio) adyacentes. Este modo de división puede experimentar, según VAHLKAMPF, una variante ligera: los granitos cromáticos que constituyen el esbozo de la placa ecuatorial fig. (F_d), en vez de reunirse formando cro-

mosomas, pueden constituir una masa o cuerpo intermedio (figura F_m) que luego se alarga considerablemente, se angosta en el centro (figs. $F_{n, ñ}$) y se divide (figs. $F_{o, p}$), continuando luego el proceso de división nuclear en la forma indicada anteriormente (figuras $F_{k, l}$).

Supone VAHLKAMPF que el espacio comprendido entre el endosoma y la membrana está ocupado exclusivamente por jugo nuclear, y así nada indica respecto a la formación de cromatina periférica en los núcleos hijos. Explica el aumento de volumen de la placa ecuatorial y de los cromosomas, de igual modo que el del cuerpo intermedio, suponiendo que fluye cromatina de los cuerpos polares, y así pretende razonar el que éstos aparezcan menores en las figuras en que aquéllos tienen mayor volumen.

La descripción de VAHLKAMPF no puede ser aceptada si se tienen en cuenta algunas de las fases que he tenido la fortuna de observar. En efecto: las figuras $F_{b, c, d}$ corresponden bien a las mías de promitosis (lám. I, figs. 18, 16, 10), aunque tienen menos sustancia cromática en el huso, lo que se explica porque la cromatina periférica debe ser escasísima en *V. limax*, hasta el punto de no haber sido observada por VAHLKAMPF; pero no es admisible enlazar (mediante $F_{e, f, g, h}$) las fases de promitosis que dichas figuras representan, con las representadas por $F_{i, j, k, l}$—o (mediante F_m) con las representadas por $F_{n, ñ, o, p}$—, pues las figuras $F_{i, n, ñ, o, p}$ presentan un cuerpo intermedio bien típico y corresponden a mis figuras 29, 27, 26, 28, 30 (lám. II), cuyo origen es muy diferente, según muestra con toda seguridad una serie de fases (lám. II, figs. 19 a 25), que VAHLKAMPF no conoció o conoció imperfectamente (1). Tampoco es admisible la desaparición de los cuerpos polares por aflujo de su material al

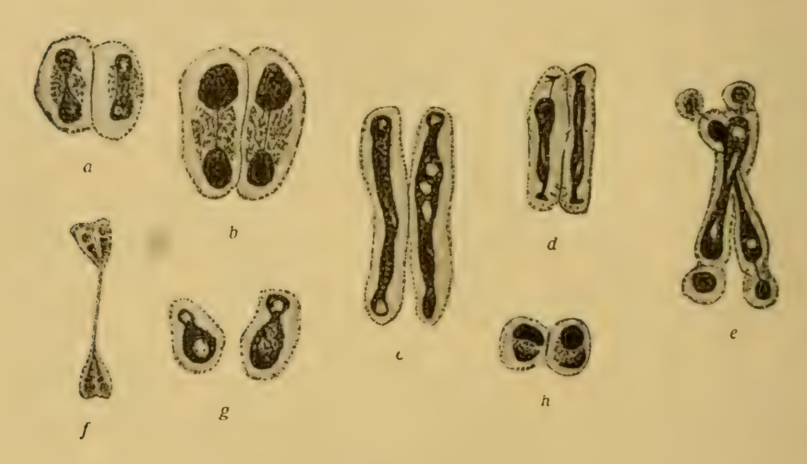
(1) Nunca he observado cromosomas bien individualizados como VAHLKAMPF los representa; me inclino a creer que los de su figura F_g son bastoncitos basófilos del cuerpo intermedio — como los de mi figura 27 (lám. II) — que han retenido el color negro mejor que los otros. Los de $F_{e, f}$ son de más difícil explicación.

cuerpo intermedio o a las mitades de éste (figs. $F_{i, j, k, p}$), pues mis figuras 30, 32, 34, 35 y 36 (lám. II) muestran que los cuerpos polares subsisten y adquieren forma esférica durante la protodiéresis, para convertirse en endosomas de dos de los cuatro núcleos nietos al terminar las metadiéresis (fig. E del texto y lám. II, fig. 37). El origen de la errónea interpretación de VAHLKAMPF, es el siguiente: los cuerpos polares primeros de la sindiéresis son de tamaño y forma muy varios, a veces pequeñísimos e irregulares (lam. II, figs. 29, 30, 31 y 40) y sólo al final de la protodiéresis—fase que VAHLKAMPF no conoció—se vuelven esféricos y, por lo común, de tamaño igual al de los segundos (lámina II, fig. 35). La figura F_l de VAHLKAMPF, en que parecen fundirse el cuerpo polar y la mitad del cuerpo intermedio, puede explicarse porque una masa se proyecte sobre la otra, o porque, en el pequeño espacio que entre ambas queda, haya resistido el precipitado negro a la acción del alumbre de hierro.

Aunque las figuras $F_{a, b, c, d}$ de VAHLKAMPF son de promitosis (algo diferente de la de *W. gruberi*), y las figuras $F_{h, i, j, k, l, n, ñ, o, p}$ son de sindiéresis, no puede afirmarse el que *V. limax* presente ambos modos de división, porque quizás no todas las figuras de VAHLKAMPF sean de una misma especie de Ameba; pues este autor iniciaba sus cultivos con una partícula de la tez que se forma en las maceraciones de paja, y, aunque luego en las siembras sucesivas, tomaba el material de los puntos del terreno de cultivo ricos en Amebas, no se cercioraba de que todas fuesen de una misma especie. Yo he empleado este procedimiento al empezar el estudio de *W. gruberi*, y no pude conseguir un solo cultivo en que esta especie no estuviese acompañada de otra (*Amoeba Chattoni?* Dangeard) hasta que recurrí al sistema de sembrar con un solo quiste. Para el caso de que se comprobase que las figuras de VAHLKAMPF corresponden a diferentes Amebas, propongo que se reserve el nombre *limax* a la especie que presente las figuras de promitosis $F_{b, c, d}$.

Nägler (1909) da figuras de *Vahlkampfia diploidea* (*Amoeba diploidea*, Hartmann y Nägler) que muestran que la división nuclear en esta especie se verifica de iguales modos que en *Wasielewskia gruberi*, pues, si prescindimos de la duplicidad del núcleo, sus figuras $G_{a,b}$ corresponden a las figuras 16, 18 y 10 (lámina II), y sus figuras $G_{c,e,h}$ a las figuras 25, 26, 31 (lám. II), del presente trabajo.

A pesar de esto, Nägler admite un solo modo de división



Figs. G_{a-h}.
División nuclear de *Vahlkampfia diploidea*, según Nägler (1909).

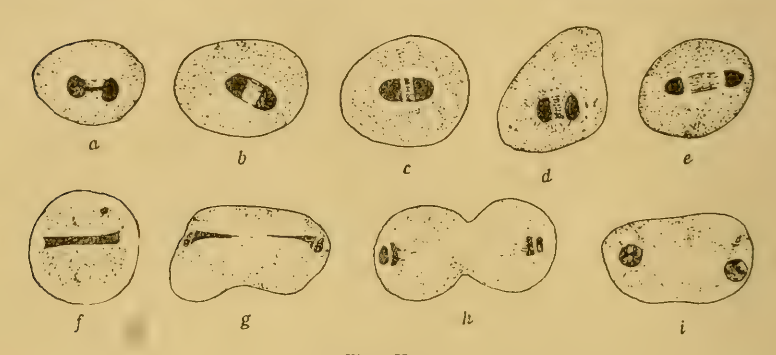
ágama, que describe de la siguiente manera: El endosoma se alarga y divide, y la cromatina periférica forma alrededor una zona anular (figs. $G_{a,b}$); luego la cromatina periférica se incorpora al endosoma, resultando así la masa alargada que vemos en la figura G_c; después la cromatina periférica sale de este endosoma por los extremos, formando junto a ellos sendas masas esponjosas (fig. G_e); y por último, el núcleo, y con él el endosoma, se divide por su parte media, formándose así los núcleos hijos, (fig. G_g) en los cuales la masa esponjosa de cromatina periférica se distribuye en forma de granos alrededor de los endosomas hijos (fig. G_h).

Esta complicada explicación de Nägler debe rechazarse teniendo a la vista las figuras del presente trabajo correspondientes a las del suyo. Aun no conociendo el verdadero origen — mostrado por las figuras 19 a 25 (lám. II) — de la fase G_c, es inadmisible suponer que siga a las fases G_b, pues vemos que entre las figuras correspondientes (lám. I, fig. 10; lám. II, fig. 26) obtenidas de preparaciones hechas por el método de Benda, hay una diferencia muy grande. De igual modo no pueden admitirse que las masas esponjosas situadas en los extremos de la masa cromática alargada (fig. G_e) sean la cromatina periférica salida de ésta, pues la cromatina periférica es oxífila y dichas masas, visibles también en mis figuras 26 y 27 (lám. II), no son otra cosa que los cuerpos polares primeros, los cuales son basófilos y sabemos que pasan a ser los endosomas de dos de los cuatro núcleos nietos originados por la sindiéresis. La futura cromatina periférica que aparece en mis figuras 26 y 27 (lám. II) teñida de verde, es también visible en la figura G_e de Nägler bajo forma de unos puntitos—no mencionados por el autor—situados entre la masa cromática alargada y las masas esponjosas de los extremos.

La notable semejanza entre las figuras de división nuclear de *Vahlkampfia diploidea* y *Wasielewskia gruberi*, muestra el estrecho parentesco de ambas Amebas; la presencia normal de dos núcleos en la primera, aunque de un interés biológico muy grande, no me parece que sea de valor taxonómico suficiente para separar aquella especie de las otras *Vahlkampfia*; tanto más, cuanto que Erdmann (1913) ha observado varias generaciones de *diploidea* cuyos individuos tenían un solo núcleo; y, en cambio, C. W. Wilson (1916) da una figura (fig. M_m) de *gruberi* con dos núcleos en protodiéresis que casi es superponible a la figura G_f de Nägler (1).

(1) El Dr. Nägler tuvo hace años la amabilidad de regalarme un cultivo de *V. diploidea*. Desgraciadamente no pude conservarlo, lo cual me impide hacer una comparación más detallada entre dicha especie y *W. gruberi*.

Dangeard (1910) describe sucintamente la división nuclear de algunas variedades de *Vahlkampfia limax*. En su variedad α, supone que el endosoma (nucleolo) se divide (fig. H_a) formando dos casquetes o cuerpos polares (fig. H_b) entre los cuales aparecen un huso y una placa ecuatorial (figs. $H_{c, d}$) constituída por



Figs. H_{a-i}.
División nuclear de *Vahlkampfia limax*, según Dangeard (1910).

pequeñísimos cromosomas cuyo origen es problemático; luego los cuerpos polares se alejan y los cromosomas ya no son visibles (fig. H_e); después la parte media del huso se vuelve más cromática (fig. H_f); luego el núcleo se divide, los cuerpos polares pierden volumen y los cromosomas (mejor dicho, la parte del huso que supone impregnada por ellos) forman dos cuerpos muy cromáticos, cónicos (fig. H_g); por último, se constituyen los núcleos hijos (figs. $H_{h, i}$), sin que pueda precisarse el origen de endosoma (nucleolo), si bien refiriéndose a la variedad β de la misma Ameba indica Dangeard que puede admitirse que los cuerpos polares originan los endosomas de los núcleos nuevos y que los cromosomas (mejor las masas de ellos derivadas, lo que hemos llamado los cuerpos polares segundos) desaparecen en el espacio perinuclear, perdiendo su sensibilidad a los reactivos.

La explicación de Dangeard es al principio parecida a la de Vahlkampf, por cuanto supone que los cuerpos cónicos de la

figura H_g — correspondiente a mis figuras 28 y 29 (lám. II) — son originados por material de la placa ecuatorial, lo que ya hemos visto que no era admisible, porque el origen de dichos cuerpos cónicos es otro, conocido con certeza (lám. II, figuras 19 a 27). En cuanto a la desaparición de dichos cuerpos



Figs. I_{a-i}.
División nuclear de *Wasielewskia gruberi*, según ALEXEIEFF (1911).

cónicos, mitades del cuerpo intermedio, sabemos que no tiene efecto, pues se convierten en cuerpos polares segundos y después en endosomas de dos núcleos nietos (lám. II, figs. 30, 35 y 36 y fig. E del texto).

ALEXEIEFF (1911) estudia la división nuclear de la misma especie objeto del presente trabajo, *Wasielewskia gruberi (Amoeba punctata)*, y da una descripción del fenómeno que hasta llegar a la figura I , coincide con mi descripción de la promitosis, excepto en suponer la parte acromática del huso formada a expensas de la plastina del endosoma. Supone luego que la placa ecuatorial se divide en dos placas ecuatoriales hijas, y que los granos cromáticos que las constituyen pueden unirse a la plastina de los restos del huso y tomar un aspecto compacto apareciendo así como dos conos casi unidos por sus vértices (fig. I_g), los cuales no son otra cosa que las mitades de lo que en mi descripción he llamado cuerpo intermedio. Por último, la plastina del huso se une a los cuerpos polares, que pasan a ser endosomas

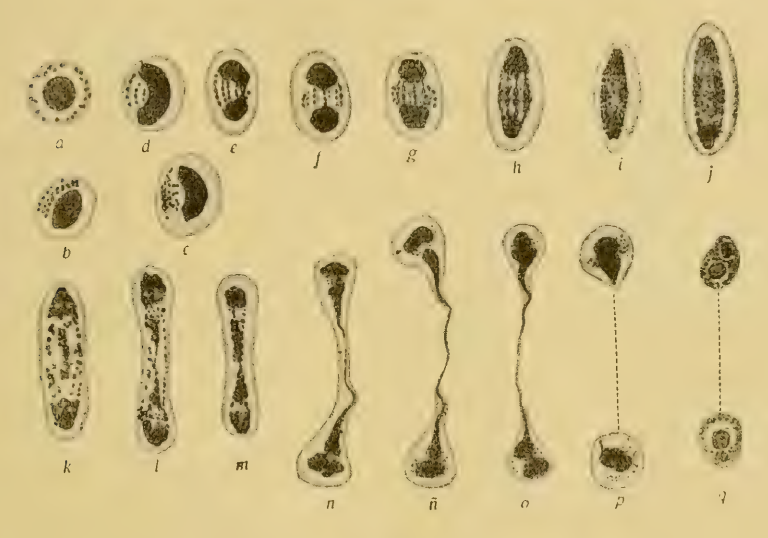
de los núcleos hijos, y la cromatina de las placas ecuatoriales hijas (de los cuerpos cónicos) se sitúa alrededor del endosoma y se convierte en cromatina periférica. Este proceso, según ALEXEIEFF, tiene algunas variantes que no pueden llamarse propiamente modos diferentes de división.

La descripción de ALEXEIEFF no es admisible teniendo a la vista las figuras correspondientes tomadas de preparaciones teñidas por el método de BENDA; la cromatina depositada sobre el huso que vemos en la figura I_f es oxífila (lám. I, fig. 10) y no puede formar los dos cuerpos cónicos (en realidad mitades del cuerpo intermedio) que vemos en la figura I_g, pues éstos son basófilos (lám. II, figs. 28, 29) y sabemos que tienen origen muy diferente, según demuestran las figuras 19 a 27 (lám. II), que ALEXEIEFF no ha señalado. Tampoco puede admitirse que el material basófilo de dichos cuerpos cónicos forme la nueva cromatina periférica, que es oxífila y tiene indubitablemente otro origen (lám. II, figs. 19 a 29); aparte de que nos consta que dichos cuerpos cónicos se transforman en los cuerpos polares segundos (lám. II, figs. 30 a 35), los cuales pueden ser de diferente tamaño que los primeros (fig. I_h y lám. II, fig. 42), y luego los endosomas de dos núcleos nietos (lám. II, fig. 36 y fig. E del texto).

GLÄSER (1912) da numerosas y excelentes figuras de muchas fases de la división nuclear de *Vahlkampfia tachypodia* (*Amoeba tachypodia*), que muestran que los fenómenos son idénticos en dicha especie y en *Wassielewskia gruberi*, Amebas que, por otra parte, sólo se diferencian por la ausencia de poros en el quiste de la primera y por faltar en ella la fase flagelífera.

La descripción dada por GLÄSER de la marcha de la división nuclear coincide al principio con mi descripción de la promitosis: las figuras $J_{a, b, c, d, e, f}$ de este autor son superponibles a otras mías (lám. I, figs. 2, 4, 5, 6, 10), y aparecen en el mismo orden en los dos trabajos. Pero llegando a la metafase (fig. J_g), la explicación de GLÄSER se aparta esencialmente de la que yo he dado. Segun este autor los granos cromáticos que vemos en dicha

fase se multiplican activamente (fig. J_h) y, desapareciendo luego la disposición fibrilar del huso y descomponiéndose en granos los cuerpos polares, resulta la figura J_i en que los granos de cromatina aparecen uniformemente repartidos; después estos granos se acumulan en la región media (figs. $J_{j, k, l, m}$), con



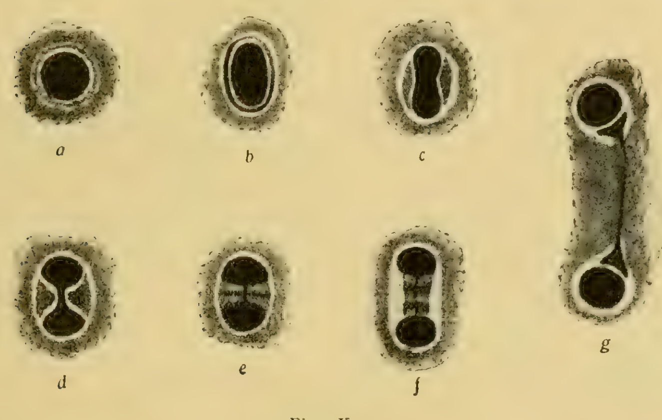
Figs. J_{a-q}.
División nuclear de *Vahlkampfia tachypodia*, según GLÄSER (1912).

lo cual la cromatina constituye, además de los cuerpos polares, un cuerpo intermedio *(Zwischenkörper)* que se alarga considerablemente (figs. $J_{n, ñ, o}$); al tiempo que esto ocurre, sale por los extremos del cuerpo intermedio una corriente de cromatina en forma de esferitas, que ocupa, primero, los espacios comprendidos entre los cuerpos polares y el cuerpo intermedio (fig. J_n) y luego se difunde por los lados (fig. $J_{ñ, o}$). Por último las dos mitades de el núcleo se separan (fig. J_p) y los cuerpos polares pasan a ser los endosomas de los núcleos hijos, mientras que la mitad del cuerpo intermedio que corresponde a cada núcleo hijo se disgrega (fig. J_q).

Esta explicación de Gläser, aunque fundada en claras y fidelísimas figuras, no puede tampoco ser aceptada. El paso de la metafase de la promitosis (fig. J_g) a las fases $J_{h,i,j}$ y siguientes, es inadmisible si se tienen a la vista las figuras correspondientes teñidas por el método de Benda (lám. I, figs. 9 y 10; lámina II, figs. 21, 22, 25, 26, 27, 30, 33), pues todo el material cromático de los cromomitos es oxífilo, mientras que los granos que se ven en las figuras 21, 22, 25, etc. (lám. II) son basófilos; aparte de que el origen de las fases que estas figuras representan, son los núcleos de pantosoma (lám. II, fig. 19) que Gläser no señaló. Probablemente ha contribuído a cimentar la explicación de Gläser el hecho de que por el método de Heidenhain quedan en los cromomitos unos granos, que quizás no revelen una estructura preexistente, pues no los acusa el «Lichtgrün», los cuales pueden confundirse con los granos basófilos de la fase representada por las figuras $J_{i,j}$ y 21, 22 (lám. II), sobre todo cuando éstos son escasos, como en la figura 38 (lám. II). Tampoco es posible admitir que las mitades del cuerpo intermedio, después de la división nuclear, se desintegren, pues sabemos que subsisten y que su destino es formar los endosomas de dos de los núcleos nietos, como demuestran las figuras 30, 32, 35 y 36 (lám. II) y E del texto correspondientes a fases que Gläser no ha señalado.

Chatton y Lalung-Bonnaire (1912) — en una memoria que conozco sólo por las referencias, acompañadas de figuras, que de ella dan Wasielewski y Kühn (1914) — explican la cariodiéresis de una *Vahlkampfia* de modo que, hasta llegar a la figura K_e, coincide con la descripción que he dado de la promitosis, excepto en atribuir al huso origen endosomático; mas luego suponen que la placa ecuatorial se divide (fig. K_f), y que las placas hijas se dirigen hacia los polos y se transforman en dos cuerpos cónicos, que en la figura aparecen aún unidos por un filamento (fig. K_g), los cuales luego se funden con los cuerpos polares adyacentes, formándose así los endosomas de los núcleos hijos: el origen de

la nueva cromatina periférica queda en duda. Lo mismo que en las explicaciones precedentes, se supone en esta de CHATTON y LALUNG-BONNAIRE que el cuerpo intermedio (los dos cuerpos cónicos unidos por un filamento, fig. K_g) se origina por el huso y el material cromático en él depositado, lo que ya hemos visto que



Figs. K_{a-g}.

División nuclear de una *Vahlkampfia*, según CHATTON y LALUNG-BONNAIRE (1912), mediante WASIELEWSKI y KÜHN (1914).

no es admisible, como tampoco lo es el que los cuerpos cónicos (las mitades del cuerpo intermedio) se fundan con los cuerpos polares, pues sabemos que, conservándose siempre independientes de éstos, se transforman en polares segundos, y luego en endosomas de los núcleos nietos (lám. II, figuras 30, 32, 35, 36 y E del texto).

FORD (1914), estudiando *Vahlkampfia tachypodia* (*Amoeba tachypodia*) o una especie muy semejante, dibuja varias fases de sindiéresis, sin fijar su atención en la marcha general de la división nuclear, sino sólo en la existencia de unos casquetes acromáticos, *achromatic caps*, que en algunas fases aparecen en los polos del núcleo y que yo no he visto en mis preparaciones.

WASIELEWSKI y KÜHN (1914) estudian la división nuclear de *Wasielewskia bistadialis* y *mutabilis* (*Vahlkampfia bistadialis* y *mutabilis*), teniendo sus descripciones particular interés, pues se basan en el estudio de preparaciones teñidas por varios métodos, entre ellos el de ROMANOWSKY.

De *W. bistadialis* dan figuras ($L_{b,c,e}$ y $L_{h,i,j,k}$), que, comparadas con las correspondientes de *W. gruberi* (figs. 7, 18 y 8 de la lám. I y 27, 26, 29 y 28 de la lám. II) y teniendo presente la variedad de métodos de teñidos, prueban la identidad de fenómenos en la división nuclear de ambas Amebas. Esto no obstante, reúnen todas las fases por ellos observadas en un solo modo de división nuclear, muy diferente del supuesto por los demás zoólogos que se han ocupado del mismo asunto. Según WASIELEWSKI y KÜHN, el endosoma se alarga y, angostándose en el medio, se hace halteriforme (fig. $L_{b,c}$), al paso que la cromatina periférica se dispone alrededor de él, formando una placa ecuatorial (fig. L_e). Luego, el endosoma termina su división, constituyendo así los cuerpos polares, y la placa ecuatorial se divide formando dos placas hijas que se dirigen hacia los polos (figs. $L_{f,g}$); pero es de advertir que los cuerpos polares no quedan por completo aislados entre sí, pues entre ellos subsiste una sustancia basófila, que suponen de origen endosomático y que constituye lo que denominan *Binnenkörperspindel* o *Binnenkörpersäule*, lo cual no es otra cosa que lo que hemos llamado cuerpo intermedio en la sindiéresis: así suponen que se origina la fase que representan sus figuras $L_{h,i,j,k}$, cuya identidad con la representada por las figuras 26, 30 y 28 (lám. II) es evidente, si se tiene en cuenta que la cromatina basófila aparece azul claro (gris, en la reproducción) en las primeras y roja en las segundas, y la oxífila de color rojo vivo (negro, en la reproducción) en aquéllas y verde en éstas. Luego, el cuerpo intermedio se alarga mucho, y rompiéndose por su punto medio, resultan dos núcleos hijos, en los cuales, la mitad correspondiente del cuerpo intermedio se funde con el cuerpo polar formando el endosoma del nuevo núcleo, y

la cromatina periférica se ordena regularmente alrededor (figura L_l), adquiriendo así la disposición del núcleo que les dió origen. Los núcleos pueden dividirse de nuevo en seguida, antes de producirse la división del citoplasma (figs. $L_{m, n}$), sin que en esta división se señale nada de particular.

Aunque basada en preparaciones teñidas por método que



Figs. L_{a-n}.

División nuclear de *Wasielewskia bistadialis*, según WASIELEWSKI y KÜHN (1914).

permite distinguir por el color dos clases de cromatina, no puede ser admitida esta explicación de WASIELEWSKI y KÜHN. En primer lugar, sabemos que la fase representada por sus figuras $L_{i, j, k}$ tiene origen completamente distinto del que suponen estos autores, según prueban mis figuras 19 a 24 (lám. II), correspondientes a fases que no se describen ni representan en la memoria de WASIELEWSKI y KÜHN y que razonablemente no podrían ser intercaladas en lugar ninguno de su serie, debiendo tenerse presente que GLÄSER, que dibujó algunas de ellas (figs. $J_{i, j}$), las ordenó de igual modo que yo lo he hecho. Además, tampoco puede aceptarse que en los núcleos hijos cada mitad del cuerpo intermedio (del llamado *Binnenkörpersäule* o *Binnenkörperspindel*) se funda en el cuerpo polar correspondiente, pues la serie de figuras 29 a 36 (lám. II), E del texto y 37 (lám. II) que no aparecen, o están quizás defectuosamente interpretadas, en la memoria de WASIELEWSKI y KÜHN (figs. $J_{m, n}$), conduce a una explicación muy dife-

rente — formación de cuatro núcleos nietos — según varias veces se ha repetido. El que Wasielewski y Kühn, a pesar de la selecta técnica empleada, den explicación tan diferente de la mía de fenómenos que han de ser iguales o muy semejantes, es debido a que han tenido a la vista menos fases de división nuclear que las representadas en las láminas del presente trabajo y, además, a que el colorante de Romanowsky, aunque elige los elementos nucleares, es menos adecuado que la safranina para el teñido de la cromatina basófila de los núcleos que nos interesan. Así vemos que la safranina revela la existencia y transformaciones de los granos cromáticos (lám. II, figs. 23 a 27), que constituyen el cuerpo intermedio (el llamado *Binnenkörpersäule* o *Binnenkörperspindel*), el cual, por el colorante de Romanowsky, toma color azul difuso y uniforme, lo que hace que fácilmente pueda ser confundido con cualquier otra formación (¿un residuo del huso?), que acaso exista entre los cuerpos polares al distanciarse éstos en la promitosis y retenga algo el color azul.

En la misma memoria, Wasielewski y Kühn describen la división nuclear de una especie nueva de Ameba, *Wasielewskia mutabilis*, dando figuras de fases promitósicas y sindieréticas. El fenómeno se complica por la existencia en el núcleo de un cuerpo marginal (*Randkörper*) oxífilo que se divide al par que los cromómeros; pero, por lo demás, la explicación que se da de la división, no difiere de la de *W. bistadialis*, por lo que no es necesaria nueva discusión.

Por último, Ch. W. Wilson (1916), en una monografía, que ha tenido la amable atención de enviarme, sobre la historia biológica de la misma Ameba objeto del mismo trabajo — *Wasielewskia gruberi* (*Nägleria gruberi*) —, describe la división nuclear del siguiente modo. El endosoma, después de haber tomado posición excéntrica, se hace halteriforme y, dividiéndose, produce los cuerpos polares, al paso que la cromatina periférica se dirige hacia el centro del núcleo, donde se forma una placa ecuatorial de ocho cromosomas (figs. $M_{a, b, c}$), cuyo origen parece

ser mixto (cromatina periférica y cromatina del endosoma); luego, éstos se dividen y—unas veces conservando su individualidad (fig. $M_{d, e}$), otras fragmentándose en granos (fig. M_g), otras reuniéndose en masas (fig. M_f)—se alejan del ecuador y, fundiéndose después, constituyen dos masas cónicas, unidas durante algún tiempo por un filamento, es decir, lo que en conjunto hemos llamado cuerpo intermedio (fig. $M_{h, i, j}$). Entre estas masas cónicas y los cuerpos polares adyacentes, queda primero un espacio desde el cual se difunde la cromatina periférica de los nuevos núcleos (fig. M_k); mas luego, cada masa cónica (cada mitad del cuerpo intermedio) se funde con el cuerpo polar próximo (fig. M_l), formándose así los endosomas de los núcleos hijos.



Figs. M_{a-m}.
División nuclear de *Wasielewskia gruberi*, según CH. W. WILSON (1910).

No puede ser aceptada esta explicación si comparamos las figuras en que se basa con las correspondientes de preparaciones teñidas por el método de BENDA, y si se tienen en cuenta, además, varias fases que CH. W. WILSON no ha conocido. Las figuras $M_{a, b}$, son de promitosis comparables a mis figuras 8 y 16 (lám. II); los gránulos que se ven en aquéllas, se explican porque con la hematoxilina de HEIDENHAIN aparece la cromatina periférica como granular (figura A del texto), lo que ocurre algunas veces con el método de BENDA (lám. II, figuras 1, 2 y 12), mas no

siempre. Las figuras $M_{h, i, j}$ son fases de sindiéresis que corresponden evidentemente a las de mis figuras 28 y 29 (lám. II), y ya hemos señalado repetidas veces que la serie de figuras 19 a 27 (lám. II), prueba que el origen de las fases por aquéllas representadas, es muy diferente del que CH. W. WILSON supone. Como ya vimos (pág. 39) al hacer la crítica de CHATTON y LALUNG-BONNAIRE, es inadmisible también que cada cuerpo polar se fusione con el cuerpo cónico (mitad del cuerpo intermedio) adyacente.

Por último, las figuras $M_{c, d, e, f, g}$, son más difíciles de relacionar con las de mis láminas; sin embargo, $M_{d, g}$ pueden referirse a la figura 38 o a la 22 (lám. II), y en este caso habría una prueba más de que no son intermedias entre $M_{a, b}$ y $M_{h, i, j, k, l}$, pues todo el material cromático existente en las cromomitos durante la promitosis, es oxífilo (fig. 16, lám. II), y los gránulos de las figuras 38 y 22 (lám. II), son basófilos.

3) Descripciones de autores que admiten dos modos diferentes de división nuclear.

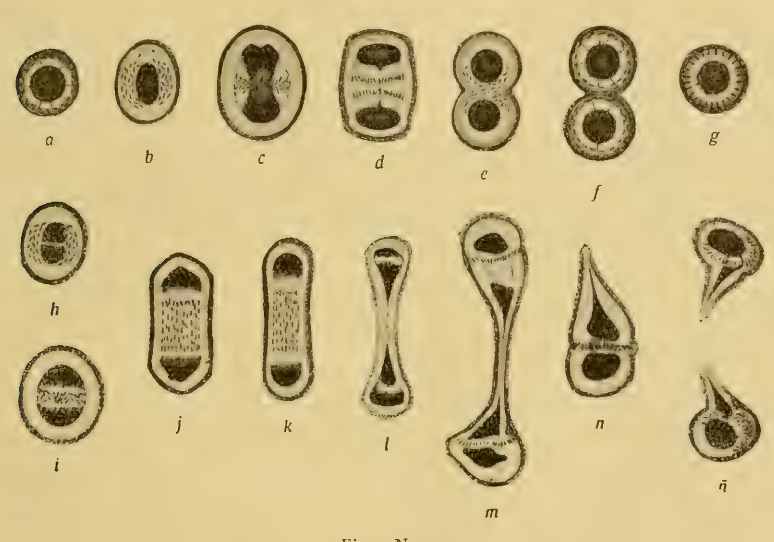
ARAGÃO (1909) y BĚLAŘ (1915) exponen detenidamente dos modos coexistentes de división. Uno de ellos debe referirse a promitosis, aunque entre sus descripciones y las que del mismo fenómeno se dan en este trabajo y en los de ALEXEIEFF (1913) y CHATTON (1910), existan algunas diferencias.

Las descripciones del otro modo de división se fundan, o por lo menos comprenden, fases de sindiéresis; a pesar de lo cual *difieren esencialmente* de mi descripción de este fenómeno, sobre todo en admitir como origen de él núcleos iguales a los que originan la promitosis y en suponer como resultado final la formación de sólo dos núcleos.

ARAGÃO (1909) fué el primero que tuvo el acierto de repartir en dos modos diferentes las numerosas fases de división nuclear que presenta su *Vahlkampfia diplomitotica (Amoeba diplomitotica)*, las cuales—como demuestra la comparación de las figu-

ras—son casi idénticas a las que ofrecen *Wasielewskia gruberi* y otras Amebas de que nos hemos ocupado.

El modo de división del núcleo que ARAGÃO expone en segundo lugar en su memoria (fig. $N_{a, b, c, d, e, f}$) coincide, salvo algunas variantes, con mi descripción de la promitosis: no indica que el



Figs. $N_{a\text{-}ñ}$.
División nuclear de *Vahlkampfia diplomitotica*, según ARAGAO, 1909.

endosoma, al dividirse, se separe del eje del núcleo; supone que, tanto en el endosoma como en la cromatina periférica, existen permanentemente unos bastoncillos o «cromosomas», si bien sólo los de esta última toman parte en la constitución de la placa ecuatorial.

El otro modo de división nuclear descrito por ARAGÃO, está basado en figuras de sindiéresis. Supone ARAOGÃO que, también en este caso, el endosoma y la cromatina periférica contienen numerosos cuerpecillos alargados o «cromosomas» (figura N_a). Al iniciarse este modo de división, los «cromosomas» de la cromatina periférica, se disponen radialmente (fig. N_g) el

endosoma se divide (fig. N_h) formando dos placas o cuerpos polares, y entre ellas se colocan los «cromosomas» de la cromatina periférica (fig. N_i); los cuerpos polares se alejan uno de otro, y los «cromosomas» se reparten ocupando el espacio existente entre aquéllos (fig. $N_{j,k}$); luego, estos «cromosomas» se agrupan formando dos cuerpos cónicos unidos por un filamento, es decir, lo que en mi descripción se ha llamado cuerpo intermedio (figs. $N_{l,m}$). La parte más estrecha del núcleo se rompe y quedan separados los dos núcleos hijos; en ellos, el cuerpo polar pasa a ser el endosoma; los «cromosomas» del cuerpo cónico (mitad del cuerpo intermedio) abandonan éste (figs. $N_{m,n}$) y se disponen alrededor de dicho endosoma, constituyendo así la cromatina periférica, al paso que el cuerpo cónico disminuye de volumen y acaba por desaparecer por completo.

No es tampoco aceptable la explicación que da ARAGÃO de este modo de división nuclear. Sus figuras $M_{j,k}$ representan la misma fase que las figuras 22 a 27 (lám. II), cuyo origen, a partir del núcleo de pantosoma — puesto en evidencia por la serie de figuras 19 a 21 (lám. II) — es muy diferente del que ARAGÃO atribuye a las suyas. El que los cuerpos cónicos (mitades del cuerpo intermedio) desaparezcan poco a poco por irse formando a expensas de ellos la cromatina periférica; es tambien por completo inadmisible, por las mismas razones expuestas en la página 36, al hacer la crítica de la explicación dada por ALEXEIEFF (1911) de la división nuclear de *Wasielewskia gruberi*, en la cual este autor supone igual fenómeno.

BĚLAŘ (1915) en su *Vahlkampfia diplogena (Amoeba diplogena)* admite explícitamente dos tipos de división nuclear.

En el primero, supone BĚLAŘ que el endosoma se alarga (figs. $\tilde{N}_{a,b,c}$), y que de él sale una sustancia débilmente cromática, «sustancia de la placa ecuatorial», que se dispone alrededor del endosoma (fig. $\tilde{N}_{e,f,g}$); luego, el endosoma y todo el núcleo se angostan en el centro (fig. $\tilde{N}_{g,h}$), y por fin se dividen (fig. $\tilde{N}_i$),

quedando separados los dos núcleos hijos; la suerte ulterior de la sustancia de la placa ecuatorial no es conocida, aunque Bělař presume que ingresa en el cariosoma. Este modo de división se asemeja a la promitosis; pero aun tratándose de especie distinta de la por mí estudiada, no me parece probable el origen cario-



Figs. Ñ$_{a-n}$.
División nuclear de *Vahlkampfia diplogena*, según Bělař (1915).

somático de la sustancia de la placa ecuatorial, pues la única razón para suponerlo es que en el núcleo en reposo de *V. diplogena* no se ve cromatina periférica, mas debe tenerse en cuenta que ésta muchas veces no queda teñida por el método de Heidenhain, que Bělař ha utilizado de preferencia.

El segundo tipo de división descrito por Bělař comprende fases de sindiéresis. Según Bělař el endosoma se alarga; en su interior se produce una cavidad en la que aparece una placa ecuatorial interna (fig. Ñ$_j$); luego, el endosoma se divide formando los cuerpos polares (fig. Ñ$_{k,\ l}$), y la placa ecuatorial se ensancha; después todo el núcleo se alarga, los cuerpos polares disminuyen de tamaño (fig. Ñ$_m$) y la placa ecuatorial, alargándose notablemente, constituye lo que hemos llamado cuerpo intermedio; por último, ésta forma dos placas hijas, dividiéndose entonces el núcleo en dos núcleos hijos (fig. Ñ$_n$). En éstos, la mitad

de la placa ecuatorial (mitad del cuerpo intermedio) forma un cuerpo cónico que se funde con el cuerpo polar, formándose así el nuevo cariosoma.

También debe rechazarse esta explicación de BĚLAŘ. Sus figuras $\tilde{N}_{k, l}$ son de fases de promitosis, de especie quizás diferente que la que produce las fases $\tilde{N}_{b, c, d, e, f, g, h}$ (1). Su figura $\tilde{N}_{m}$ corresponde a mis figuras 24 a 27 (lám. II) cuyo origen es muy diferente del que BĚLAŘ supone, según muestran las figuras 19 a 22 (lám. II), que este autor no ha conocido. El que el cuerpo polar y la mitad adyacente al del cuerpo intermedio se fusionen, tampoco es admisible, como ya vimos al ocuparnos de la explicación de CHATTON y LALUNG-BONNAIRE (pág. 39) y de la de CH. W. WILSON (pág. 44), que en este punto coinciden con BĚLAŘ. En cuanto a la figura $\tilde{N}_{j}$, no corresponde a ninguna de las que yo he observado; pero no justifica, a mi ver, la explicación que de ella se da.

En sus dos tipos de división nuclear, BĚLAŘ ha observado que la cromatina del endosoma se agrupa formando unos corpúsculos, que no he observado en *Wasielewskia gruberi*.

ALEXEIEFF (1911) estudia nuevamente la división nuclear de *Vahlkampfia limax* (Dujardin emend. Vahlkampf) de la que da figuras de promitosis y observa la existencia de cromatina periférica en el núcleo, la cual constituye la placa ecuatorial, si bien puede haber sido enriquecida por emisión de cromatina del endosoma. Indica que dos o tres veces ha visto una figura que refiere al modo de división nuclear denominado haplomitosis, que presentan ciertos Euglénidos etc. Quizás esta figura sea una fase de sindiéresis, aunque no me atrevo a afirmarlo. En todo caso, es un hecho que inclinaría a suponer la coexistencia

(1) BĚLAŘ no obtuvo cultivos de sus Amebas; el hecho, por él señalado, de que todos los individuos durante la fase trópica presentan igual aspecto, no es una prueba de que sean todos de una misma especie.

de dos modos de división en el núcleo de *Vahlkampfia limax;* pero téngase presente que sería posible que las Amebas que presentaban dicha fase, fuesen de otra especie que estuviese mezclada en pequeña proporción con *V. limax.*

La precedente relación de los trabajos sobre la división nuclear de los Vahlkámpfidos, nos muestra la gran variedad de opiniones existentes sobre dicho fenómeno. De los trece zoólogos que han observado fases de sindiéresis junto a las de promitosis, sólo tres reconocen la existencia de dos procesos diferentes de división nuclear; mas vemos que éstos ni conocieron la significación y aspectos más interesantes de la sindiéresis (núcleo de pantosoma y sus transformaciones, metadiéresis, formación de cuatro núcleos nietos), ni, en rigor, estaban autorizados a afirmar que las múltiples fases descritas perteneciesen todas a una sola especie, pues los individuos observados no constituían una estirpe originada por un individuo, como la forman los que han servido de material para el presente trabajo.

En vista de la gran semejanza que existe entre fases de división descritas como pertenecientes a Amebas de especies diferentes, cabe preguntarse si los varios nombres *Vahlkampfia limax*, *V. mucicola*, *V. diplomitotica*, *V. diploidea*, *V. diplogena*, *V. tachypodia*, *Wasielewskia gruberi*, *W. bistadialis*, *W. mutabilis*, corresponden positivamente a otras tantas especies, o si algunos de estos nombres son sinónimos. Esto último es lo más probable, pero es imposible resolverlo con seguridad, pues como dice Dangeard (1910), *rien n'est plus difficile... que de déterminer une Amibe* y, para hacerlo con seguridad, es preciso conocer *con detalles* los caracteres de la fase trópica y del quiste, el proceso de la división nuclear y los caracteres de la fase flagelífera, cuando ésta existe, conjunto de datos que no se conocen por lo que se refiere a la mayor parte de las Amebas descritas con los nombres arriba citados.

Al relatar las diferentes descripciones dadas de la división del núcleo, he prescindido de cuanto se refiere a la debatida cuestión del centriolo. Varios observadores señalan la presencia de este orgánulo, y algunos describen su división y la formación de un centrodesma; otros, como Gläser cuyas figuras son excelentes, afirman que no han podido observarlo; por mi parte, según indiqué, no he conseguido verlo jamás.

Trabajos citados [1]

ALEXEIEFF (A.)

1911.—Sur la division nucléaire et l'enkystement chez quelques Amibes du groupe *limax*. (Paris, C. R. Soc. biol. tom. LXX, pp. 455-457, 534-535 et 588-591, 22 figs.)

1912 (a).—Sur les caractères cytologiques et la systématique des Amibes du groupe *limax (Nægleria* nov. gen. et *Hartmannia* nov. gen.) et des Amibes parasites des Vertébrés (*Proctamœba* nov. gen.) (Paris, Bull. Soc. Zool., vol. XXXVII, pp. 55-74, 7 figs.)

1912 (b).—Quelques remarques complémentaires sur la systématique des Amibes du groupe *limax*. (Paris, Bull. Soc. Zool., vol. XXXVII, pp. 149-157, 1 fig.)

1912 (c).—Quelques remarques à propos de la spécificité parasitaire. Sur le véritable nom de *Cryptobia (=Trypanoplasma) intestinalis* et sur celui du Trypanosome pathogène des Mammifères; quelques autres questions de synonimie chez les Protozoaires (Zool. Anz., Leipzig, Bd. XLI, p. 17-37, 3 figs.)

1913.—Systématisation de la mitose dite «primitive». Sur la question du centriole. (A propos de la division nucléaire chez *Malpighiella* sp.) (Arch. Protistenkunde, Jena, Bd. XXIX, pp. 344-363, 7 figs.)

ARAGÃO (H. de BEAUREPAIRE).

1909.—Sobre a *Amœba diplomitotica* n. sp. Contribuição para o estudo da divizão nuclear nas amebas.—Ueber eine neue Amoebenart, *Amoeba diplomitotica*. Beitrag zum Studium der Kernteilung bei den Amoeben (Rio de Janeiro, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, tomo I, pp. 33-43, estampa 2.)

ARNDT (A.)

1914.—Über generative Vorgänge bei *Amoeba chondrophora* n. sp. (Arch. Protistenkunde, Jena, Bd. XXXIV, pp. 39-59, Taf. 3.)

(1) Los trabajos cuyo año de publicación va precedido de un asterisco no han podido ser consultados y los conozco sólo por referencias.

Beaurepaire Aragão (H. de).
1909.—(Véase Aragão.)

Blochmann (F.)
* 1893.—Zur Kenntniss von *Dimorpha mutans* Grub. (Biol. Centralbl. Leipzig, Bd. xiv, pp. 197-199, 3 Fig. v.)

Bělař (K.)
1915.—Protozoenstudien. I. (Arch. Protistenkunde, Jena, Bd. xxxvi, pp. 13-51, Taf. 2-4, 3 Textfig.)

Calkins (G. N.)
1909.—Protozoölogy. (London; Baillière, Tindall & Cox; 349 pp., 4 pl. 125 figs.)
* 1913.—Genera and species of Amoeba. (Trans. 15th. Internat. Congr. Hig. and Demography, pp. 1-19.)

Chatton (E.)
1910.—Protozoaires parasites des branchies des Labres: *Amœba mucicola* Chatton, *Trichodina labrorum* n. sp. Appendice: Parasite des Trichodines. (Arch. Zool., Paris, 5e série, tome v, pp. 239-266, pl. 3, 1 fig.)
1912.—Sur quelques genres d'Amibes libres et parasites. Synonimies, homonymie, impropriété. (Paris, Bull. Soc. Zool., vol. xxxvii, pp. 109-115.)

Chatton (E.) et Lalung-Bonnaire.
* 1912.—Une Amibe *limax* (*Vahlkampfia*, n. gen.) dans l'intestin humain. Son importance pour l'interprétation des formes de culture. (Paris, Bull. Soc. path. exot., v, pp. 135-143, 1 pl.)

Dangeard (P. A.)
1910.—Études sur le développement et la structure des organismes inférieurs. (Le Botaniste, Paris, xi, pp. 1-311, pl. i-xxxiii, figs.)

Erdmann (Rh.)
1913.—Experimentelle Ergebnisse über die Beziehungen zwischen Fortpflanzung und Befruchtung bei Protozoen, besonders bei *Amoeba diploidea*. (Arch. Protistenkunde, Bd. xxix, pp. 84-127, 10 Textfig.)
1914.—Véase Woodruff (L. L.) and Erdmann (R.)

Ehrlich (P), Krause (R.) u. a.
1910.—Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. Zweite Aufl. (Berlin u. Wien, Urban u. Schwarzenberg, 2 Bd.)

Ford (E.)
1914.—On the nuclear division of a free-living *limax* amoeba (*Amoeba*

tachypodia Gläser?) (Arch. Protistenkunde, Jena, Bd. xxxiv, pp. 190-197, Taf. 12.)

Gläser (H.)

1912.—Untersuchungen über die Teilung einiger Amöben, zugleich ein Beitrag zur Phylogenie des Centrosoms. (Arch. Protistenkunde, Jena, Bd. xxv, pp. 27-152, Taf. 3-8, 5 Textfig.)

Hartmann (M.)

1913—Rhizopoda (In: Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Jena, Bd. viii, pp. 422-455.)

Hartmann (M.) und Schüssler (H.)

1913.—Flagellata (In: Handwörterbuch der Naturwissenschaften, Jena. Bd. iii, pp. 1179-1226.)

Klebs (G.)

1892.—Flagellatenstudien. Theil I. (Zs. wiss. Zool., Leipzig, Bd. lv, pp. 265-351, Taf. xiii-xvi.)

Kühn (A.)

1914.—Véase Wasielewski (Th. v.) und Kühn (A.)

Lalung-Bonnaire

* 1912.—Véase Chatton et Lalung-Bonnaire.

Moroff (Th.)

1904.—Beitrag zur Kenntnis einiger Flagellaten (Arch. Protistenkunde, Jena, Bd. iii, pp. 69-106, Taf. vii u. viii.)

Nägler (K.)

1909.—Entwicklungsgeschichtliche Studien über Amöben (Arch. Protistenkunde, Jena, Bd. xv, pp. 1-52, Taf. i-vi.)

Reichenow (E.)

1913.—*Karyolysus lacertae*, ein wirtwechselndes Coccidium der Eidechse *Lacerta muralis* und der Milbe *Liponyssus saurarum* (Berlin, Arb. Gesundheitsamt, Bd. xlv, pp. 317-363, Taf. viii-x.)

Schardinger (F.)

* 1899.—Der Entwicklungskreis einer Amoeba lobosa (Gymnamoeba) *A. gruberi* (Wien, Sitz.—Ber. Ak. Wiss., Bd. cviii.)

Schüssler (H.)

1899.—Véase Hartmann (M.) und Schüssler (H.)

Vahlkampf (E.)

1905.—Beiträge zur Biologie und Entwicklungsgeschichte von *Amoeba limax* einschliesslich der Züchtung auf künstlichen Nährböden (Arch. Protistenkunde, Bd. v, pp. 166-220, Taf. vi.)

WASIELEWSKI (Th. v.) und KÜHN (A.)
1914.— Untersuchungen über Bau und Teilung des Amöbenkernes (Zool. Jahrb., Jena, Abt. f. Anat. u. Ont., Bd. XXXVIII, pp. 253-326, Taf. 15-17, 8 Textfig.)

WILSON (Ch. W.)
1916.—On the life-history of a soil Amoeba (Berkeley, Univ. Cal. Publ. Zool., vol. XVI, pp. 241-292, pl. 18-23.)

WOODRUFF (L. L.)
1916.—Endomixis in diverses races of *Paramaecium aurelia* (Proc. Soc. for Exper. Biology and Med., vol. XIII, pp. 161-162.)

WOODRUFF (L. L.) and ERDMANN (R.)
1914.—A normal reorganization process without cell fusion in *Paramaecium* (J. Exp. Zool., Philadelphia, Pa; vol. XVII, pp. 425-521, 4 pl., 22 figs.)

WÜLKER (G.)
1911.—Die Technik der Amöbenzüchtung (Centrbl. Bakter., 1 Abt., Bd. L., pp. 577-610)

ZULUETA (A. de).
1915.—Sobre la reproducción de *Dinenympha gracilis* Leidy (Trab. Mus., Madrid, Serie Zool., núm. 23, 26 págs., 1 lám., 6 figs.)

Explicación de las láminas

LOS DOS MODOS DE DIVISIÓN NUCLEAR DE *Wasielewskia gruberi*

Todas las figuras han sido observadas con el objetivo apocromático de Zeiss 2 mm. 1.30 y dibujadas al mismo aumento (× 2.000) con auxilio del aparato de Abbe. Las preparaciones han sido teñidas por safranina y «Lichtgrün S. F.»

LÁMINA I

Figs. 1 y 2.—Fase trófica.

Figs. 3 á 13.—Fases sucesivas de promitosis.

Fig. 14.—Ameba con dos núcleos originados por promitosis.

Figs. 15, 16 y 18.—Iguales fases que las representadas por las figuras 6 a 8, pero vistas en núcleos orientados de otro modo.

Fig. 17.—Ameba con dos núcleos originados por promitosis, uno de los cuales empieza a dividirse de nuevo.

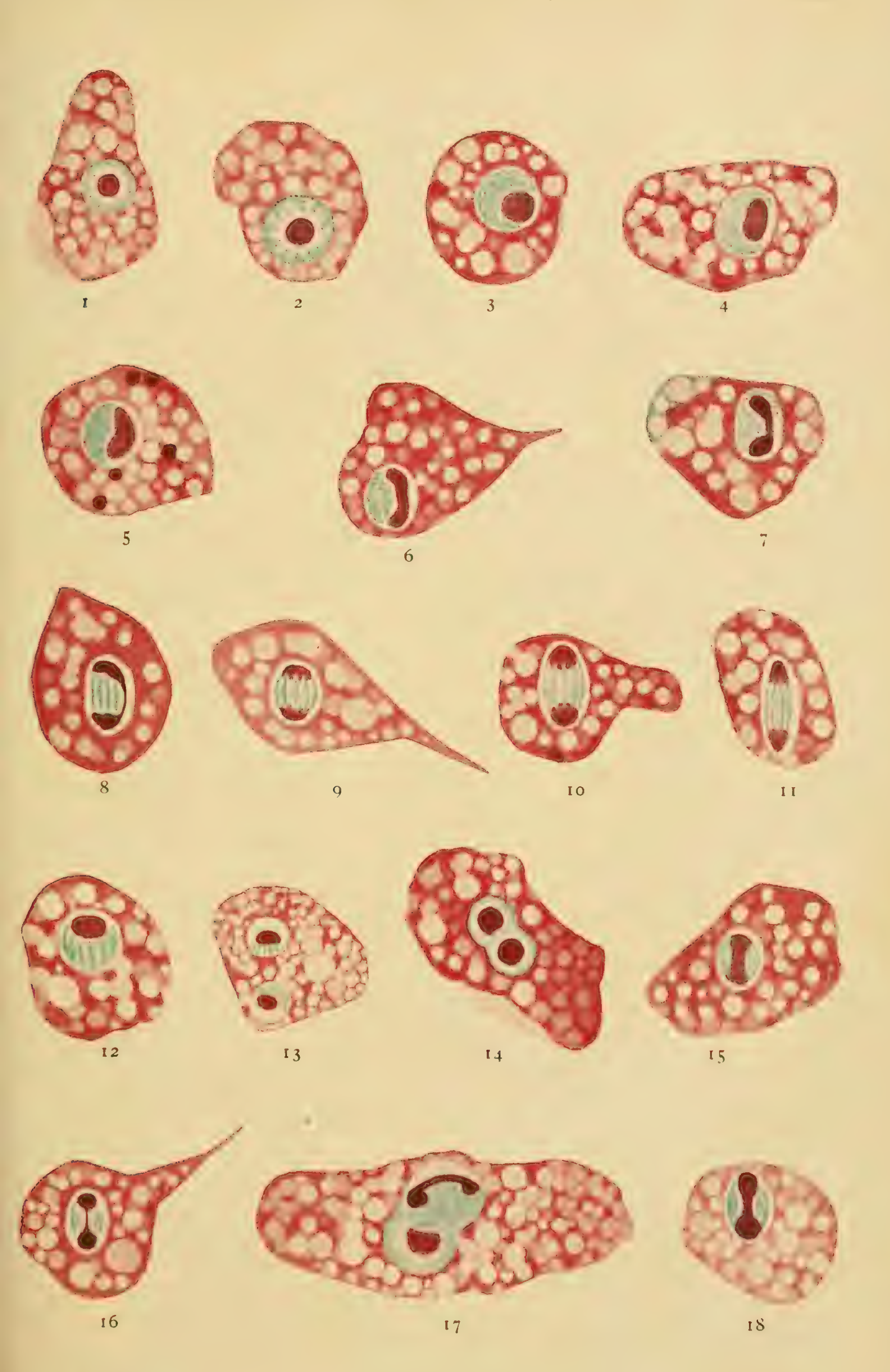
LÁMINA II

Fig. 19.—Ameba con núcleo de pantosoma.

Figs. 20 a 36.—Fases sucesivas de sindiéresis.

Fig. 37.—Ameba con dos núcleos originados por sindiéresis.

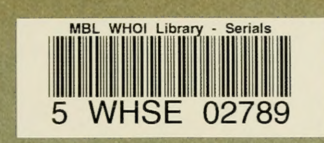
Figs. 38 a 42.—Aspectos anómalos de sindiéresis.



L. de la Vega et A. de Zulueta, pinx.



L. de la Vega et A. de Zulueta, pinx.


MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02789